

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1939

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Pierre PAYET

Né le 20 Janvier 1914 à La Rivière St Louis (Ile de la Réunion)

Les nouveaux procédés de vaccination contre la Fièvre jaune

Président : TANON, Professeur.

IMPRIMERIE ARTISTIQUE MODERNE

A. LAPIED

24, rue Monsieur-le-Prince VI.

1939

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1939

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Pierre PAYET

Né le 20 Janvier 1914 à La Rivière St Louis (Ile de la Réunion)

Les nouveaux procédés de vaccination contre la Fièvre jaune

Président : TANON, Professeur.

IMPRIMERIE ARTISTIQUE MODERNE

A. LAPIED

24, rue Monsieur-le-Prince VI.

1939

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	OLONOVSKI.
Bactériologie	Robert DEBRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générale	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	ABRAMI.
Pathologie chirurgicale	MONDOR.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHIRAY
Clinique médicale	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBE.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNEO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GREGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	CHEVASSU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	JEANNIN.
	LEVY-SOLAL.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	M. VILLARET
Clinique de la Tuberculose	TROISIER.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
Clinique cardiologie	LAUBRY.
Clinique de neuro-chirurgie	Clovis VINCENT.
Clinique d'Assistance Médico-sociale	N...
	HAZARD.
	HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire	MULON.
	OLIVIER.
	SANNIE.
	VERNE.



II. AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

AMELINE Pathologie chirurgicale.
 BARIETY Pathologie médicale.
 BENARD (H.) . Pathologie médicale.
 BERNARD (E.) . Pathologie médicale.
 BESANÇON (J.) Hydrologie.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER .. Pathologie médicale.
 COSTE Pathologie médicale.
 DOGNON Physique.
 FEY Urologie.
 FUNCK Pathologie chirurgicale.
 GALLIARD Parasitologie.
 GASTINEL Bactériologie.
 DE GAUDART
 D'ALLAINES Pathologie chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 DE GENNES ... Pathologie médicale.
 GIROUD Histologie.
 HAGUENAU .. Pathologie médicale.
 HALPHEN Oto-rhino-laryngologie.
 HUGUENIN ... Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUEJOL . Obstétrique.
 LAROCHE (Guy) Pathologie médicale.
 LAVIER Parasitologie.
 LELONG Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale
 Mlle J. LEVY .. Pharmacologie.
 LEVY-VALENSI. Neurologie et Psychiâtrie.
 MENEGAUX ... Pathologie chirurgicale.
 MOLLARET ... Pathologie médicale.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET . Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 PETIT-
 DUTAILLIS Pathologie chirurgicale.
 PIEDELIEVRE .. Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RENARD Ophthalmologie.
 RICHT Physiologie.
 SENEQUE Pathologie chirurgicale.
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT Physiologie.
 GUENIOT Obstétrique.
 HEITZ-BOYER . Pathologie chirurgicale.

LARDENNOIS .. Pathologie chirurgicale.
 LE LORIER ... Obstétrique.
 NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
 SCHWARTZ .. Pathologie chirurgicale.
 VAUDESCAL . Obstétrique.

VI. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM	
ALAJOUANINE .		BASSET	Clinique chirurgicale.
AUBERTIN		BROCQ	
BRULE		CADENAT	
CHABROL		GATELLIER.	
DONZELOT	Clinique médicale.	MOURE	
DUVOIR		QUENU	
LIAN		VELTER	
PASTEUR-VAL- LERY-RADOT			
SEZARY			

MM.

ECALLE	Clinique obstétricale.
METZGER	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé .	Education physique
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique
RUPPE	Stomatologie
WEIL-HALLE	Puériculture

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

Votre dévouement et votre honnêteté seront toujours pour moi un exemple.

En modeste témoignage de ma reconnaissance et de mon affection.

A LA MEMOIRE DE MON FRERE

A MES SŒURS

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES CAMARADES D'ETUDE

A BETTY LOUWOYE

A TOUS MES AMIS

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur TANON

Membre de l'Académie de Médecine

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine
de Paris

Professeur à l'Institut de Médecine Coloniale

Chevalier de la Légion d'Honneur

*qui nous a fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse, et auprès
de qui nous avons trouvé, au cours
de nos années d'études, les conseils
les plus éclairés.*

Hommages respectueux.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

A MES MAITRES
DE L'INSTITUT DE MEDECINE COLONIALE
DE PARIS

A MON JURY DE THESE

INTRODUCTION

Pendant longtemps on a été désarmé dans la lutte contre la fièvre jaune, car on ignorait à peu près tout de sa pathogénie, quoique la maladie fût connue depuis plusieurs siècles déjà.

Originnaire du golfe du Mexique, elle frappa d'abord les premiers Européens qui vinrent s'y établir, et l'on trouve dans les mémoires de l'époque la description de cette affection avec toute sa physionomie clinique caractéristique. De là, elle essaima aux Antilles où elle fut importée par l'*Ori flamme* en 1690, puis en Afrique Occidentale par d'autres navires de commerce.

De fort bonne heure, Français et Etrangers lui payèrent de lourds tributs au cours de leur installation dans les pays où elle existait déjà. Ses ravages furent nombreux et terribles; et l'on peut voir, pour ne citer qu'un cas, la première tentative de creusement du canal de Panama par Ferdinand de Lesseps échouer à cause d'elle.

On devait donc, de plus en plus, s'attacher à trouver un moyen de la prévenir. Mais il a fallu attendre 1927 pour que la découverte d'un animal sensible à la fièvre jaune, le *Macarus rhesus*, fît apparaître les premiers vaccins.

Depuis, d'immenses progrès ont été accomplis, et la fièvre jaune a reculé considérablement. Aussi, il nous

a paru intéressant de rappeler dans notre travail ce qui a été fait au sujet de cette vaccination antiamarile.

Laissant de côté la partie clinique de l'affection, nous nous bornerons à exposer uniquement l'état de la vaccination dans la fièvre jaune, en insistant plus particulièrement sur les derniers progrès réalisés.

Dans un premier chapitre nous rappellerons comment on est arrivé à la vaccination antiamarile. Puis nous aborderons, d'après leur ordre d'apparition, les différents procédés de vaccination utilisés et leurs résultats.

Avant de passer à notre sujet, il nous est agréable de remercier M. le Professeur Tanon qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Que M. Marcel Clerc veuille trouver également ici l'expression de notre gratitude.

I. — LES DEBUTS DE LA VACCINATION CONTRE LA FIEVRE JAUNE ET LES PREMIERS VACCINS

La vaccination contre la fièvre jaune a hanté depuis longtemps les esprits. Pasteur, lui-même, en eut l'idée, quand, en 1882, il assista à Bordeaux à la fin d'une épidémie de cette maladie qui s'était déclarée à bord d'un navire arrivé quelques jours auparavant. Malheureusement il ne put rien réaliser car il n'y avait plus de malades.

Après lui la question fut reprise, mais s'avérait très épineuse. En effet, on ignorait tout de la pathogénie de la fièvre jaune, et en particulier de son mode de transmission.

On crut d'abord que l'agent pathogène était un *ultra-virus*, car de nombreux examens de sang pratiqués à diverses périodes de la maladie, n'avaient rien montré. Puis on pensa qu'il pouvait s'agir d'un germe du groupe des paratyphiques : le *bacillus ictéroïdes*, mais on s'aperçut que ce dernier n'était tout simplement qu'un microbe de sortie. Plus tard, Noguchi mit en évidence dans le sang de certains malades la présence d'un spirochète : *leptospira ictéroïdes*, et annonça qu'il avait découvert l'agent de la fièvre jaune. Malheureusement il y avait confusion et le germe en question n'était autre que celui de la spirochétose ictéro-hémorragique. On

fut obligé de revenir à la conception d'autrefois, celle d'un ultra-virus.

Ce fut à la mission américaine de Cuba (Reed, Carrol, Agramonte et Lazear) que revient le mérite d'avoir démontré, en 1900, par des travaux mémorables, qu'il s'agissait bien en effet d'un virus filtrant, que la maladie n'était pas contagieuse mais transmissible, et que le vecteur était un moustique, le *Stegomyia fasciata* ou *Aedes aegypti*. Elle établit en outre que le virus ne se trouve chez l'homme que durant les trois premiers jours de la maladie. C'est pendant cette période que le moustique vecteur puise dans le torrent circulatoire le virus qu'il ne pourra transmettre qu'au bout de 12 à 18 jours : temps nécessaire à l'évolution probable du germe dans le corps de l'insecte. Enfin la mission américaine montra qu'une première atteinte de fièvre jaune conférait l'immunité.

Tout ceci eut un retentissement énorme sur la conception de la maladie et éclaira d'un jour nouveau les notions épidémiologiques qu'on possédait déjà. Elle ouvrait la porte à une prophylaxie efficace, tout au moins quant à la lutte contre les *Stegomyies*.

Il restait cependant à parachever ces mesures prophylactiques par une vaccination adéquate. Certes, on entrevoyait très bien la possibilité d'un vaccin contre la fièvre jaune, mais les cas observés jusqu'alors étaient exclusivement humains, et on n'avait pas pu inoculer la maladie aux animaux de laboratoire. Tous se montraient réfractaires au typhus amaril.

Or il est indispensable, pour fabriquer un vaccin, d'avoir à sa disposition des animaux réceptifs sur lesquels on puisse faire des essais. Le problème était donc

difficile à résoudre; néanmoins, de nombreux savants s'y attaquèrent.

En mai 1927, Stokes, Bauer et Hudson, expérimentant à Accra (Côte de l'Or), eurent l'idée d'inoculer à un singe asiatique, le *Macacus rhesus*, du sang de sujets atteints de fièvre jaune depuis 24 heures. L'animal fit une infection fébrile aboutissant à la mort en hypothermie au bout d'une dizaine de jours. L'autopsie montra de l'ictère, des hémorragies, un état pâle et marbré du foie, avec nécrose et dégénérescence graisseuse. Il semblait donc que le singe avait fait une fièvre jaune analogue à celle de l'homme. Des expériences méthodiques confirmèrent le bien-fondé de cette hypothèse. En effet, l'inoculation à des macaques neufs de quantités infimes de foie virulent, provenant de singes morts après infection expérimentale, provoqua chez eux une maladie semblable.

Dès lors, la vaccination contre la fièvre jaune allait pouvoir entrer dans la voie des réalisations : on avait enfin un animal réceptif, le *macacus rhesus*. Sans doute ne pouvait-on pas encore cultiver le virus amaril, du moins on avait la possibilité de l'entretenir indéfiniment par passages successifs de singe à singe. Cette découverte est à la base de toute la vaccination antiamarile; c'est à partir de ce moment que les recherches vont se multiplier et aboutir rapidement à des applications pratiques.

En 1927-28, Laigret et Sellards à Dakar confirmèrent les travaux de Stokes, Bauer et Hudson. Sellards rapporta d'A.O.U., dans un thermos, du foie congelé de macaque, mort à la suite d'une fièvre jaune expérimentale. Ce fut l'origine de la souche française de virus qu'il

mit généreusement à la disposition des laboratoires de Paris, Londres, Berlin, Amsterdam, Rio de Janeiro, etc... Les savants purent ainsi donner libre cours à leurs recherches dans de meilleures conditions. Aussi les premiers vaccins ne tardèrent-ils pas à apparaître.

C'est Hindle qui, le premier, réalisa à Londres la vaccination du singe et appliqua le procédé à l'homme. A cet effet il employa deux vaccins : un vaccin formolé et un vaccin phéniqué, préparés avec une émulsion de foie virulent de *Macacus rhesus*.

Presque en même temps, Pettit et Stefanopoulo utilisèrent comme vaccin un virus atténué et un anavirus préparé en appliquant au foie virulent de macaque le procédé préconisé par Ramon pour la production de l'anatoxine.

Ultérieurement, de Beaurepaire Aragao prépara un vaccin glyciné, phéniqué, ou phéniqué et formolé. Lemos Monteiro et Davis proposèrent des vaccins chloroformés.

Tous ces vaccins étaient constitués par du virus tué selon divers procédés. Quelle était leur valeur? Ils ne semblaient pas avoir donné tous les résultats qu'on attendait d'eux; et Laigret, par des expériences méthodiques, démontra leur quasi inefficacité. Sans doute le virus mort n'était-il plus apte à déclencher dans l'organisme la formation d'anticorps spécifiques en quantité suffisante.

Par ailleurs, un événement d'une grande importance allait intervenir, et donner une orientation nouvelle à la vaccination antiamarile.

En 1930, Max Theiler à New-York, cherchant d'autres animaux réceptifs à la fièvre jaune d'un emploi moins

onéreux que le *Macarus rhesus*, inocula à la souris blanche, par voie intracérébrale, du sang d'un macaque atteint de fièvre jaune. L'animal fit une encéphalite mortelle. Max Theiler, poursuivant ses travaux, vit que cette infection était aisément transmissible de souris à souris par le cerveau. Il s'agissait bien d'une infection de nature amarile puisque l'inoculation de cerveau virulent de souris au *Macacus rhesus* reproduisait chez lui la fièvre jaune, et que l'addition à ce virus de sérum de sujets guéris protégeait l'animal de la maladie.

D'autre part, le temps d'incubation de l'infection expérimentale de la souris se fixa à six jours après un certain nombre de passages. A partir de ce moment, l'inoculation du virus au singe ne produisait plus de manifestations ou des réactions très légères; mais dans les deux cas l'animal était immunisé.

Ainsi deux points importants étaient acquis : d'une part, on allait pouvoir se servir de la souris blanche comme animal d'étude, et, d'autre part, on avait la possibilité de contrôler l'efficacité des vaccins en fonction de leur degré de protection envers l'animal.

II. — EVOLUTION DE LA VACCINATION ANTIAMARILE

Les découvertes de Max Theiler, en élargissant le champ des expériences, allaient permettre de nouvelles réalisations. Trois méthodes firent bientôt leur apparition :

- à Londres, le vaccin de Findlay;
- à Paris, le vaccin de Pettit et Stefanopoulo;
- à Tunis, le vaccin de Sellards et Laigret.

I. — *Vaccin de Findlay.*

En 1931, Sawyer, Kitchen et Lloyd, reprenant les travaux de Theiler, préparèrent un vaccin tiré des constatations faites sur l'infection expérimentale de la souris. Leur procédé consistait à inoculer à la souris un mélange de virus amaril et de sérum provenant d'un individu guéri de fièvre jaune.

Findlay, à Londres, au « Welcome Bureau of scientific Research », mit en application leur méthode; ses recherches parcoururent deux étapes : le procédé par voie sous-cutanée d'abord, puis le procédé par voie intradermique.

Dans le procédé par voie sous-cutanée, on injectait dans la région de l'abdomen 0 cm³ 5 d'immunsérum amaril humain par kilogramme d'individu à vacciner.

et 4 ou 5 heures après, sous la peau du bras, 0 cm³ 5 d'une suspension à 1/10^e dans le sérum humain normal de cerveau de souris infectée par la fièvre jaune.

Sur 40 personnes immunisées par cette méthode, 24 seulement réagirent par une élévation de température supérieure à 37°2 et, parmi elles, une seule présentait un état de quelque gravité.

Mais cette méthode par voie sous-cutanée nécessitait de grandes quantités de sérum récolté chez des personnes guéries de fièvre jaune, ou récemment immunisées contre elle. C'est pourquoi Findlay mit au point la méthode intradermique. Elle consistait à faire dans la région de l'abdomen, à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille à intradermique, quatre injections de 1/4 de cm³ d'immum sérum amaril humain, aux quatre angles d'un carré d'environ 25 millimètres de côté. Deux heures après on poussait au centre de ce carré une injection de 0 cm³ 2 à 0 cm³ 3 d'une suspension à 1 p. 10 de cerveau de souris dans du sérum humain normal.

Les réactions fébriles dans la méthode intradermique étaient moins nombreuses qu'avec la méthode en sous-cutanée, mais les réactions retardées étaient par contre plus fréquentes avec le procédé intradermique.

Le vaccin de Findlay par voie intradermique présentait cependant certains avantages. D'abord, la quantité de sérum injectée était relativement minime. Cela permettait son utilisation pour un grand nombre d'individus, et diminuait le risque de réactions sériques. Enfin les réactions post-vaccinales paraissaient peu fréquentes.

II. — *Vaccin de Pettit et de Stefanopoulo.*

Dès 1928, Pettit et Stefanopoulo avaient cherché à remplacer dans le traitement de la fièvre jaune le sérum de convalescents, difficile à se procurer, par du sérum de cheval préparé à cet effet. Ils réussirent à inoculer le cheval avec du virus de singe, et obtinrent un sérum très actif.

En 1933, Stefanopoulo eut l'idée de substituer le sérum équin au sérum humain dans la séro-vaccination. Cette réalisation aplanissait l'obstacle que constituait la récolte de grandes quantités de sérum de convalescents.

Dans son principe, la méthode de Pettit et Stefanopoulo rappelait celle de Findlay. Elle consistait à injecter sous la peau de l'individu à vacciner 10 à 20 centimètres cubes d'immun sérum amaril de cheval, et à inoculer après 4 ou 6 heures, dans la région deltoïdienne, le virus neurotrope de souris constitué par une émulsion de cerveau de l'animal.

Les auteurs, pour éviter les réactions sériques possibles, pratiquaient la méthode de désensibilisation chez les personnes qui avaient reçu antérieurement du sérum de cheval. En outre, ils ne vaccinaient qu'après un examen médical préalable, et écartaient ceux qui présentaient des tares physiologiques.

Leur vaccin donnait une immunité rapide, et les réactions post-vaccinales étaient insignifiantes.

III. — *Vaccin de Sellards et Laigret.*

Dès 1931, Laigret, qui travaillait depuis longtemps la

question de la vaccination contre la fièvre jaune, avait constaté le peu d'efficacité des vaccins utilisant les virus amarils tués. Par ailleurs, les particularités du virus neurotrope de souris l'orientaient vers une nouvelle voie.

En effet, ce virus, tout en provoquant chez la souris une affection complètement différente de celle qu'on observe chez l'homme et le singe, reproduisait, quand il était inoculé à ce dernier, une fièvre jaune typique, tout au moins au début de ses passages successifs sur cerveaux de souris. Puis au bout d'un certain nombre de ces passages, le singe inoculé ne présentait plus de fièvre jaune, ou simplement de légères réactions, et dans les deux cas il était immunisé.

Laigret pensa donc que ces passages successifs du virus sur les cerveaux de souris avaient atténué sa virulence, mais qu'il n'en conservait pas moins son pouvoir antigénique. Aussi chercha-t-il à appliquer cette méthode dans la vaccination de l'homme.

Dans une première tentative de vaccination humaine, cinq individus furent inoculés avec du virus qui était au 134^e passage sur cerveaux de souris. La vaccination fut pratiquée avec une émulsion de cerveaux prélevés au moment où les souris étaient mourantes, c'est-à-dire entre le 6^e et le 8^e jour après leur infection.

Le premier sujet fut inoculé avec 1/2 centimètre cube d'une suspension de cerveau de souris à 1/1.000.000^e, puis, onze jours après, avec 1 cm³ d'une suspension de virus à 1/10.000^e, enfin, sept jours après, avec 1 cm³ d'une suspension à 1/100^e.

Le dernier sujet reçut d'emblée une dose relativement élevée de virus : 1 cm³ de suspension à 1/100^e.

Chez les cinq sujets les réactions consécutives à l'inoculation du virus se montrèrent nulles ou insignifiantes : l'infection amarile fut inapparente, mais laissa après elle une immunité qui put être mise en évidence par les épreuves de protection. Le sérum des sujets protégeait la souris vis-à-vis du virus de souris, et le singe vis-à-vis du virus normal.

Durant ces premières recherches, Sellards et Laigret avaient constaté que des doses telles que 1 cm³ de la suspension à 1/10.000^e suffisaient pour faire apparaître le pouvoir protecteur, et pour confirmer cette donnée, ils firent une deuxième série de vaccinations.

Sept sujets reçurent une unique injection de 1 cm³ d'une émulsion de cerveau de souris à 1/10.000^e. Trois de ces sujets présentèrent des réactions fébriles tardives, et les deux autres une série de symptômes dont certains semblaient se rapprocher de ceux de la fièvre jaune. Mais Laigret ne put mettre le virus en évidence dans le sang de ces sujets vaccinés.

Il n'en pensa pas moins que ces réactions pouvaient être dues au virus neurotrophe de souris qui avait recouvert une partie de sa virulence, et que le nombre de passages ne suffisait pas, à lui tout seul, à atténuer le virus d'une manière définitive. En conséquence, il fallait chercher d'autres moyens d'atténuation, et surtout un procédé de titrage du virus avant son emploi.

Laigret prépara des suspensions glycerinées de virus qu'il atténua de deux façons : d'une part, par simple

exposition à la température ordinaire, d'autre part par dessiccation dans le vide en présence de phosphate de soude anhydre. Les deux vaccins avant leur utilisation étaient rigoureusement titrés. Les virus ainsi préparés ne tuaient plus les souris, et leur inoculation était suivie de l'apparition de substances protectrices dans le sérum de ces animaux.

Ces vaccins se conservaient très bien en frigorifique, et le vaccin sec pendant au moins sept jours dans le vide.

La technique des injections était :

— Pour les vaccins secs, trois injections à 20 jours d'intervalle de 0 gr. 01 de poudre dissous dans 1 cm³ d'eau physiologique, en partant de la virulence la plus faible.

— Pour les vaccins glycélinés, trois inoculations successives, dans la peau de l'abdomen, à 20 jours d'intervalle, avec trois vaccins de virulence graduée. Chaque inoculation comprenait 1 cm³ de broyage glycéliné dilué au 1/10^e dans de l'eau physiologique.

Ils furent expérimentés avec succès pour de nombreuses vaccinations humaines à l'Institut Pasteur de Dakar.

D'une façon générale, ces trois vaccins passés en revue représentaient un immense progrès, et permettaient d'obtenir de nombreux succès. Cependant, dans la sérovaccination il fallait tenir compte des réactions individuelles et des variations de virulence des cerveaux

infectés de souris; et l'ajustement précis des proportions d'immum sérum et de virus à injecter semblait difficile à réaliser.

Dans le procédé de Laigret, le coefficient de sécurité quant aux accidents possibles des inoculations était plus élevé, mais la méthode nécessitait trois injections, séparées chacune par 20 jours d'intervalle. Il fallait ainsi un temps relativement long pour aboutir à la vaccination définitive.

III. — LES VACCINS ACTUELS

Les procédés actuels de vaccination anti-amarile sont le résultat de laborieuses recherches faites à la lumière des expériences passées.

Ils sont deux principaux, qui représentent, en quelque sorte, deux tendances opposées, quant aux particularités du virus amaril. L'un, à la faveur de conceptions nouvelles, basées sur des observations cliniques et expérimentales, utilise un virus pantrope atténué par culture sur tissus. L'autre, tenant compte des résultats acquis au prix de minutieuses expériences, continue à employer un vaccin fabriqué avec du virus neurotrope de souris. A côté de ces vaccins, il faut citer un autre procédé dans lequel on se sert d'un virus non infectieux.

I. — *Vaccins utilisant le virus pantrope atténué par culture sur tissus.*

Les origines de ce vaccin remontent à 1936. Dès cette époque, la constatation d'accidents nerveux, apparus à la suite de la vaccination avec du virus neurotrope atténué, fit naître des idées nouvelles, à la fois sur certaines particularités du virus amaril, et sur certaines formes cliniques de la fièvre jaune.

On s'est demandé si ces manifestations nerveuses, à type d'encéphalite ou de méningo-encéphalite, n'étaient pas tout simplement des formes nerveuses bénignes d'une infection amarile inoculée avec le virus neuro-

trope; et si cette localisation à l'axe nerveux n'était pas due à une exaltation, à la suite des passages successifs par cerveaux de souris, d'un neurotropisme probable existant déjà dans le virus originel.

Pour expliquer ces possibilités, de nombreux auteurs se rallièrent à la conception d'un virus amaril initial pantrope ou viscérotrope, c'est-à-dire n'ayant pas d'affinités spéciales pour tel ou tel organe, mais au contraire les atteignant tous. Ce virus pantrope, à la faveur de passages successifs sur des cerveaux de souris, verrait se développer plus particulièrement son tropisme nerveux qui était auparavant équivalent à ses autres tropismes. Le neurotropisme s'affirmerait de plus en plus, et pour peu que le virus ne soit pas suffisamment atténué, il serait capable de produire une infection nerveuse de nature amarillique.

C'est dans le but d'éviter de pareilles éventualités que Theiler, Lloyd et Ricci réalisèrent, en 1936, une méthode de culture du virus amaril pantrope sur tissus embryonnaires. De cette façon le virus resterait indéfiniment semblable à lui-même, et on ne verrait plus se développer des particularités susceptibles d'avoir, le cas échéant, un fâcheux retentissement.

La méthode de culture rappelle celle qu'ont indiquée Rivers et Ward pour la culture du virus vaccinal *in vitro*.

Le milieu de culture est constitué par du tissu embryonnaire de souris, de cobaye ou de poulet, mis en suspension dans du liquide de Tyrode, et conservé à l'étuve à 37° dans des flacons d'Erlenmeyer hermétiquement fermés. On y ensemente le virus, représenté par du sérum de singes infectés, ou par une suspension de

cerveau de souris, et les milieux sont portés de nouveau dans l'étuve.

Les auteurs réussirent à obtenir de nombreux passages du virus pantrope ainsi cultivé. Les souches obtenues ont montré, au fur et à mesure de leurs passages sur les cultures de tissus, une perte progressive de virulence vis-à-vis du *Macacus rhesus*. Leur neurotropisme pour la souris ou le singe ne s'est pas augmenté.

Une souche de virus amaril pantropé, passée par 92 subcultures sur des milieux constitués par de la solution de Tyrode associée à du tissu embryonnaire de souris, n'a regagné que lentement sa virulence pour le singe, au cours de 30 passages par *Macacus rhesus*. Cette augmentation de virulence s'est traduite par la mort, par fièvre jaune, de 6 singes sur les 30 de la série; mais aucun n'est mort d'encéphalite.

Lloyd, Theiler, et Ricci ont préparé un vaccin avec la culture sur tissus sans filtration, de façon à ne pas réduire le titre en virus de la préparation. Ils obtinrent des résultats intéressants, mais leur vaccin n'était pas exempt d'impuretés susceptibles de produire des réactions regrettables.

Findlay reprit le procédé et, à la suite de minutieuses recherches, y apporta certaines modifications. Il remplaça dans le milieu de culture l'embryon de souris par l'embryon de poulet, car chez la souris on rencontre souvent le virus de la chorio-méningite lymphocytaire décrit, pour la première fois, en Amérique, par Armstrong et Lilie en 1934.

Ce virus semble avoir été responsable de maints accidents nerveux imputés au virus amaril lui-même. D'autre part, Findlay, au bout d'un certain nombre de pas-

sages du virus pantrope sur tissus, et après vérification de son inocuité, l'inocule à des souris sélectionnées. Les cerveaux de ces animaux fournissent l'émulsion nécessaire à la fabrication du vaccin. Elle est filtrée sur filtre Seitz imperméable au virus de la chorioméningite, et conserve son titre en virus.

La vaccination avec le virus pantrope atténué par culture sur tissus s'est faite jusqu'en 1937 par inoculation de ce virus associé à de l'immun-sérum amaril, soit humain soit équin. On injectait 0 cm³,5 d'immun-sérum amaril par kilogramme de poids de l'individu à vacciner et 1 centimètre cube de virus de culture sur tissus.

Depuis deux ans, on emploie le virus pantrope atténué seul, sans addition de sérum, car de minutieuses expériences faites durant cette période ont démontré son efficacité et son inocuité.

Le procédé consiste à inoculer 1 centimètre cube d'émulsion de virus pantrope atténué par culture sur tissus, préparé suivant la méthode de Findlay.

Lors des expériences de cet auteur, 65 personnes furent vaccinées de cette façon. Certaines d'entre elles accusèrent une céphalée légère vers le 3^e ou le 4^e jour après l'inoculation. Dans deux cas, la céphalée débuta 48 heures après l'injection; mais elle ne s'accompagna que dans un cas d'une élévation thermique au-dessus de 37°8, et de douleurs dans le dos et les jambes. Cependant, aucun de ces malades ne dut s'aliter.

L'immunité est acquise au bout de 3 semaines ainsi que le prouvent les nombreux tests de protection réalisés chez la souris. Elle dure environ 2 ans et, au bout de ce temps, une injection de rappel est nécessaire pour la maintenir.

Cette vaccination avec le virus pantrope atténué de culture sur tissus employé seul est utilisée aux Etats-Unis, en Angleterre et au Brésil. Pettit et Stefanopoulo s'en servent également à l'Institut Pasteur de Paris.

Elle est d'une pratique simple, réalise une protection efficace, et les réactions post-vaccinales sont nulles ou insignifiantes.

II. - *Vaccin utilisant le virus neurotrope de souris atténué et enrobé, ou vaccin de Laigret.*

Ce vaccin est un perfectionnement de ceux qui ont été préparés jusqu'ici par Laigret à l'Institut Pasteur de Tunis. Le vaccin phosphaté utilisé antérieurement nécessitait 3 injections à 20 jours d'intervalle : ce qui rendait peu pratique son application sur une grande échelle. Pour y remédier, Laigret prépara un nouveau vaccin additionné de jaune d'œuf, permettant de ne faire qu'une seule injection au lieu de trois.

La technique de sa préparation est la suivante :

On broie avec 1 gr. 25 de phosphate de soude un cerveau de souris paralysé, préalablement mis en glycérine, et atténué à 20°. A la poudre ainsi produite, on incorpore 1 centimètres cubes de jaune d'œuf. La pâte obtenue est desséchée jusqu'à consistance d'une masse dure et compacte que l'on broie.

La poudre ainsi préparée est répartie en ampoules par fractions de 5 centigrammes, représentant chacune une dose de vaccin (600 unités-souris environ).

Les ampoules vides d'air et scellées à la lampe sont conservées à - 15 degrés. La conservation est parfaite au bout de 8 mois, et le vaccin est encore actif après

2 mois à $+5$ degrés, et après 20 jours à $+20$ degrés. La question du transport de ces vaccins ne nécessite aucune précaution spéciale dans les pays tempérés. Pour les régions tropicales, on se sert de glace ou de bouteilles thermos réfrigérées.

Avant la mise en ampoules, ces vaccins sont soumis à un titrage rigoureux. Pour cela on prépare trois suspensions de poudre à virus atténué. Une première suspension *a*, contient 0 gr. 05 de vaccin et 5 centimètres cubes d'eau physiologique; une deuxième suspension *b* 0 cgr. 5 de *a* additionné de 4 centimètres cubes d'eau physiologique; la troisième suspension *c* renferme 0 cm³, 5 de *b* et 4 cm³, 5 d'eau physiologique.

La suspension *a* correspond à une dilution à 1/100 du vaccin et à 1/1.000 du virus.

La suspension *b* correspond à une dilution à 1/1.000 du vaccin et à 1/10.000 du virus.

La suspension *c* correspond à une dilution à 1/10.000 du vaccin et à 1/100.000 du virus.

Chaque dilution est injectée dans le cerveau de 2 souris, ces dernières doivent être tuées par les suspensions *a* et *b* et non par la suspension *c*.

La technique de la vaccination est la suivante :

On injecte dans le tissu adipeux de la paroi abdominale, ou dans la région de la pointe de l'omoplate, le contenu d'une ampoule de 5 centigrammes, additionné de 1 centimètre cube d'eau physiologique.

Les réactions consécutives à l'inoculation du vaccin sont nulles ou bénignes. L'immunité acquise a pu être mise en évidence au laboratoire par le test de séro-protection de Theiler.

Le contrôle des vaccinations pratiquées à l'Institut

Pasteur de Dakar de 1935 à 1938, au moyen de ce test, ont donné les résultats suivants :

1° En moyenne 85 à 90 % de protections fortes sont apparues au cours du 2^e mois après l'injection vaccinale.

2° Ces protections fortes s'affaiblissent ou disparaissent au bout de un an dans un certain nombre de cas, mais il reste encore à ce moment plus de 75 % de gens fortement protégés.

3° Ces pourcentages ne baissent guère par la suite, et les personnes qui, un an après la vaccination sont fortement protégées, le restent encore au cours des deux années qui suivent.

D'où l'utilité d'une injection de rappel du vaccin tous les deux ans, pour permettre aux sujets vaccinés de garder indéfiniment leur immunité.

III. — *Vaccin utilisant un virus non infectieux ou vaccin de Sellards et Bennett.*

A côté des deux vaccins à virus pantrope et à virus neurotrope tous deux atténués, il y a lieu de signaler, parmi les procédés récents, une méthode intéressante, mais qui n'a pas encore été appliquée à l'homme : c'est le vaccin de Sellards et Bennett.

Sellards et Bennett ont préparé dernièrement un vaccin antiamaril selon une technique qui rappelle celle qu'ont employée Fermi et Semple pour la vaccination antirabique.

Ils sont partis de la souche neurotrope amarile française au 300^e passage par cerveau de souris blanche. Ils ont préparé une suspension contenant 20/100 en poids de fin broyat de cerveau en solution saline phénolée

à 1/100. Après un séjour de 6 jours à l'étuve à 37°, le vaccin est devenu inoffensif pour la souris par injection intracérébrale de 1/60 de centimètre cube de sédiment de tissu cérébral.

Le vaccin est conservé à —4°, et dilué au moment de son emploi à parties égales avec de l'eau physiologique. Sellards et Bennett ont réussi à vacciner par ce procédé des souris et des lapins.

Ils ont constaté en outre que l'addition de chlorhydrate de cystéine à raison de 0 gr. 10 pour 5 grammes de cerveau de souris augmentait l'efficacité du vaccin.

Mais jusqu'ici cette méthode n'a été employée que chez les animaux. Son application à l'homme se heurte à des difficultés techniques, et d'après Findlay, il faudrait de très grosses quantités de virus tué pour produire l'immunité.

IV. — LES DERNIERS PROCEDES

Tout récemment, Peltier, Durieux, Jonchère et Arquié ont réalisé une nouvelle méthode de vaccination contre la fièvre jaune.

Ces auteurs, reprenant les expériences déjà anciennes de H. Beeuvhes et de Marchoux sur la pénétration du virus pantrope par contact avec la peau rasée et scarifiée de macacus rhesus, réussirent à inoculer 2 singes neufs, à partir de la souche neurotrope française en usage à l'Institut Pasteur de Dakar, en déposant simplement une goutte de suspension glycinée de poudre de cerveau virulent sur des scarifications pratiquées au niveau de l'abdomen de ces animaux.

Ils n'observèrent aucune réaction fébrile. Le test de séro-protection pratiqué un mois après l'expérience se montra fortement positif.

En janvier 1939, la même expérience fut répétée sur 6 adultes volontaires dont le test de protection s'était montré négatif. Un seul présenta une légère élévation thermique passagère. Le test de séro-protection, recherché tous les jours qui suivirent l'inoculation, se montra fortement positif chez tous les sujets.

Les auteurs conclurent que le virus amaril, aussi bien pantrope que neurotrope, peut traverser la peau à la faveur de scarifications légères, se développer dans l'organisme et provoquer l'immunité dans les mêmes conditions qu'après inoculation sous-cutanée.

Ils essayèrent d'appliquer cette intéressante constatation à la vaccination humaine, et eurent l'idée d'employer conjointement le virus amaril et le virus vaccinal en une seule et même vaccination.

L'expérimentation fut faite d'abord sur 4 macacus rhesus neufs. Le mélange de virus vaccinal et de virus amaril fut déposé sur des scarifications faites au niveau de l'abdomen. Un 5^e singe témoin, déjà immunisé contre la fièvre jaune, reçut sur l'abdomen, d'un côté du virus vaccinal pur, de l'autre le vaccin mixte. Au bout de quelques jours, il présenta des pustules vaccinales toutes semblables les unes aux autres.

Parmi les autres rhesus, 3 présentèrent des pustules vaccinales et le 4^e ne fit aucune réaction locale. On retrouva le virus amaril neurotrope dans le sang des 4 rhesus neufs. Trois d'entre eux présentèrent une petite élévation de température du 4^e au 8^e jour, et tous firent preuve ensuite d'une solide immunité contre le virus amaril.

Ainsi une seule inoculation de virus vaccinal et de virus amaril pouvait faire apparaître simultanément, et sans réaction violente, une double immunité envers la variole et la fièvre jaune.

La méthode fut appliquée à l'homme. 741 personnes reçurent ainsi le vaccin mixte, sans le moindre incident. Sur 500 sujets éprouvés avant la vaccination, 386 avaient un test de Theiler négatif. Parmi ces derniers, 266 sur 295 revus après 6 semaines, présentaient un test positif.

Il semble, d'après les résultats acquis, que la vaccination mixte antiamarile et antivariolique détermine

l'immunité contre la fièvre jaune dans 90 % des cas, et contre la variole dans les mêmes proportions qu'avec le vaccin j Jennerien seul.

Ce procédé simple, pratique, et rapide va contribuer à étendre sur une plus grande échelle encore la vaccination contre la fièvre jaune.

CONCLUSION

Il résulte de cet exposé des différents procédés de vaccination antiamarile que nous ne sommes plus désarmés comme autrefois dans la lutte contre la fièvre jaune.

Nous devons cela au labeur incessant de nombreux savants qui se sont donnés pour tâche d'abattre le fléau.

A l'heure actuelle, nous avons à notre disposition deux vaccins de valeur antigénique égale :

1° le vaccin à virus pantrope atténué par culture sur tissus employé seul.

2° le vaccin à virus neurotrope atténué par dessiccation et enrobé dans du jaune d'œuf.

Ces vaccins sont utilisés par la voie sous-cutanée. Récemment une nouvelle méthode de vaccination a fait son apparition. Elle emploie par voie cutanée un vaccin mixte, constitué par le mélange de virus vaccinal et de virus amaril atténué, pantrope ou neurotrope.

Que faut-il penser de ces vaccins?

Sont-ils efficaces? Il suffit pour répondre de considérer les chiffres suivants : de 1934 à 1937 inclus, 10.412 vaccinations furent pratiquées dans nos possessions d'Afrique. Durant cette période, 109 cas mortels de fièvre jaune furent signalés. Tous ils concernaient des sujets non vaccinés, sauf un seul cas, pour lequel la perte de l'immunité s'explique par le fait que le sujet avait été

vacciné plus de deux ans auparavant, et n'avait pas reçu, depuis, d'injection de rappel.

Sont-ils inoffensifs? Les faits acquis à la suite d'une longue expérimentation s'échelonnant sur des années permettent de l'affirmer. Certes, la vaccination anti-amarile donne parfois des réactions assez violentes, mais jamais elle n'a provoqué d'accidents mortels. D'ailleurs les réactions observées, qui ont toutes guéri, sans laisser de séquelles, deviennent de plus en plus rares, en raison du perfectionnement constant apporté aux méthodes de fabrication des vaccins.

Grâce aux procédés de lutte contre les stégomies et à la vaccination, la fièvre jaune est en train de disparaître. Déjà, depuis un an ou deux, on signale une sérieuse régression de cette terrible maladie coloniale. Il n'est pas osé de penser que d'ici quelques années elle n'existera plus, et ce sera alors le juste couronnement de la persévérance humaine.

Vu le Doyen :

Vu le Président de thèse :

TIFFENEAU

TANON

Vu et permis d'imprimer :

le Recteur de l'Académie de Paris :

G. ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

- M. Advier.* — La vaccination contre la fièvre jaune. (Bull. Méd., n° 44, 29 octobre 1938, p. 789.)
- G.-M. Findlay et F.-D. Mac Callum.* — Vaccination contre la fièvre jaune au moyen du virus pantrope atténué employé seul. (Bull. de l'Off. Intern. d'hyg. publ., t. XXIX, juin 1937, n° 6.)
- M. Peltier, C. Durieux, H. Jonchère et F. Arquie.* — Pénétration du virus amaril neurotrope par voie cutanée. Vaccination mixte contre la fièvre jaune et la variole. (Bull. de l'Acad. de Méd. du 9 mai 1939, n° 17, p. 657.)
- E.-L. Peyre et P. Fricaud.* — Fièvre jaune et vaccination antiamarile. (Presse Méd., 24 février 1937.)
- L. Boyé et F. Cazanove.* — La fièvre jaune et vaccination. Détermination des zones d'endémicité. (Biol. Méd., n° 6 juin 1914.)
- C. Mathis, C. Durieux et M. Advier.* — La vaccination antiamarile comporte-t-elle des dangers dans les régions où la fièvre jaune sévit endémiquement et où les *Stegoniya* abondent? (Bull. Acad. de Méd., Sce du 6 novembre 1934, t. CXII, n 35.)
- J. Laigret.* — Les vaccinations contre la fièvre jaune. (Acad. de Méd., n°s 3 et 4, 2 octobre 1937.)
- M.-E. Vogel et M. Riou.* — Les maladies épidémiques endémiques et sociales dans les colonies françaises pendant l'année 1937. (Ann. de Méd. et Pharm. Col., 1939.)

